

IN VITRO UNTERSUCHUNGEN ZUR
THROMBOLYSE MIT VERSCHIEDENEN
THROMBOLYTISCH WIRKSAMEN
SUBSTANZEN

MARGOT SEMSROTH

1970



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

In vitro Untersuchungen zur Thrombolyse mit verschiedenen thrombolytisch
wirksamen Substanzen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät der

Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Margot Semsroth, geb. Wöhler

aus Gut Golste

München 1970



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. H. Hess

Dekan: Prof. Dr. E. Kraft

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Juni 1970

Meinem Mann gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

- I. Historisches
- II. Grundlagen der Thrombolyse-Fibrinolyse
 - 1. Komponenten des fibrinolytischen Systems
 - 2. a) Aktivierung des fibrinolytischen Systems durch Streptokinase
 - b) Inhibitoren der Streptokinase
 - c) Theorien über den Mechanismus des enzymatischen Vorgangs im und am Thrombus
 - 3. a) Wirkungsmechanismus von Aspergillinase (Proteinase I)
 - b) Aspergillinase-Inhibitoren
- III. Begründung und Thema der Arbeit
- IV. Material, Reagentien und Methodik
 - 1. Material
 - a) Herstellung der in-vitro-Gerinnsel
 - b) Operativ gewonnenes Material
 - 2. Reagentien
 - a) Streptokinase
 - b) Aspergillinase
 - 3. Methodik
 - a) Versuchsanordnung und Durchführung
 - b) Volumenbestimmung und Versuchsdauer
- VI. Ergebnisse
 - 1. In-vitro-entstandene Gerinnsel aus Nativblut
 - 2. Operativ gewonnenes thrombotisches Material verschiedenen Alters
- VII. Diskussion
- VIII. Zusammenfassung

1. HISTORISCHES

Die Geschichte der Thrombolyse reicht bis zu den griechischen Naturphilosophen (8). Aber erst im vergangenen Jahrhundert wird erstmals von DENIS (1838) und ZIMMERMANN (1846) die Auflösung eines Gerinnsels beim Menschen beobachtet.

DASTRE prägte für diesen Vorgang 1893 den Ausdruck "Fibrinolyse".

Einen erheblichen Anstoß bekam die Forschung über die Fibrinolyse 1933 durch TILLET und GARNER, als sie über die fibrinolytische Wirkung von Filtraten beta-hämolysierender Streptokokkenstämme berichteten (1). CHRISTENSEN nannte dieses Ferment "Streptokinase" (2), da es nicht direkt fibrinolytisch wirkt, sondern durch die Aktivierung des proteolytischen Systems. Die Streptokinase konnte aber wegen der Verunreinigung damals am Patienten nur lokal oder höchstens in kleinen Dosen intramuskulär angewendet werden (3). Seit etwa zehn Jahren hat man so große Fortschritte in der Reinigung dieser Substanzen erzielt, daß es heute möglich ist eine intravasculär injizierbare Streptokinase herzustellen (4).

Fast zur gleichen Zeit wie die Entdeckung der Streptokinase fand GRASSMANN ein proteolytisch wirksames Enzym von dem Pilz ASPERGILLUS ORYZEAEE (5). Diese Beobachtung wurde erst wieder von STEFANINI und MARIN aufgegriffen (6).

BERGVIST beschrieb die Isolierung und Reinigung dieses Enzyms und nannte es "Protease" (7).

Bedeutung hat noch die fibrinolytisch sehr wirksame "Urokinase", die im menschlichen Urin ausgeschieden wird und den Vorteil der fehlenden Antigenität hat, aber bisher leider nur unter unökonomischen Bedingungen hergestellt werden kann.

II. GRUNDLAGEN DER THROMBOLYSE-FIBRINOLYSE

Ein Thrombus ist das sichtbare Endprodukt eines Gerinnungsablaufes. Seine wesentlichen Bestandteile, die im Lichtmikroskop sichtbar werden, sind Fibrin, Plättchenbalken, Erythrocyten und Leukocyten. Die Auflösung eines Thrombus ist im wesentlichen mit einer Fibrinolyse verbunden, wodurch erklärt wird, daß zwischen den Begriffen "Fibrinolyse" und "Thrombolyse" keine grundlegenden Unterschiede bestehen (8). Unter der "Fibrinolyse" versteht man einen hinsichtlich des Substrates Fibrin definierten Vorgang, während "Thrombolyse" der mehr komplexe Prozeß einer Auflösung von Blutgerinnseln ist.

1. Komponenten des fibrinolytischen Systems

Das fibrinolytische System besteht aus vier Hauptkomponenten: Plasminogen, Plasmin, Plasminogen-Aktivatoren und Plasminogen-Inhibitoren.

PLASMINOGEN ist ein inaktives Beta-Globulin. Man findet es nicht nur im Blut, sondern auch im Gewebe und in manchen Sekreten. KLINE hat es 1953 durch Kristallisierung rein darstellen können.

PLASMIN ist ein Ferment mit drei verschiedenen enzymatischen Aktivitäten. Nach BACK und Mitarbeitern hat es eine proteinolytische, eine fibrinolytische Aktivität und eine die fähig ist das Fibrinolysin-System (Plasmin-System) zu aktivieren. Es ist aber nicht substratspezifisch für Fibrin (RATNOFF; AMBRUS und MARKUS). Die Plasminverdauung von Casein und Gelatine wird methodisch zur Aktivitätsbestimmung herangezogen. Plasmin wird, wie auch Plasminogen, intensiv an Fibrin adsorbiert. Dadurch wird es zum eigentlichen fibrinolytischen Ferment. Die Adsorption, wie auch die weitgehend gleichmäßige Verteilung, erklärt die Tatsache, daß eine Fibrinolyse eines Gerinnsels in vitro überhaupt stattfinden kann.

PLASMINOGEN-AKTIVATOREN: Die endogene, also körpereigene Aktivierung erfolgt durch die Aktivatoren, die im Blutplasma selbst (8), in den Körperflüssigkeiten (9) und im Gewebe enthalten sind (10 und 11). Diese Aktivatoren können zu einer Spontanfibrinolyse führen. Die Freisetzung erfolgt bei einer Zellschädigung, bei einer Strukturveränderung der Zelloberfläche oder durch mechanische, chemische oder physikalische Reize (12).

Von den exogenen Aktivatoren für Plasminogen ist die bakterielle Lysokinase "Streptokinase" die am häufigsten angeführte und therapeutisch am meisten verwendete Substanz.

Urokinase, ein physiologischer und damit antigenfreier Aktivator, liegt etwa in der Aktivitätsgrößenordnung der Streptokinase.

PLASMIN-INHIBITOREN: Plasmin ist normalerweise in geringen Konzentrationen im Blut vorhanden, es wird aber beim gesunden Menschen von Antiplasminen inaktiviert. Nach FLETCHER u. a. steht einer Antiplasminkonzentration von 5 Casein-Einheiten pro Milliliter Plasma eine Plasminkonzentration von 3,5 Casein-Einheiten pro Milliliter Plasma gegenüber. Es überwiegen also physiologischerweise in diesem Fermentsystem die Inhibitoren.

Man hat im Humanserum Inhibitoren in zwei Fraktionen isoliert (13). Die eine Fraktion wandert bei der Elektrophorese mit den α_1 -Globulinen und die andere mit den α_2 -Globulinen. Es ist möglich, daß diese Inhibitoren identisch sind mit denen, die sich gegen Aspergillinase richten (6). Auch sind die Thrombocyten mit Antiplasminen versehen. Es ist nicht sicher, ob diese Antiplasmine in den Plättchen lokalisiert sind oder ob sie an der Plättchenoberfläche nur adsorbiertes Plasma-Antiplasmin sind (14). Die Antistreptokinase des Blutes richtet sich nicht gegen Plasmin, sondern gegen Streptokinase selbst. Sie entsteht bei der immunologischen Reaktion als Folge einer Streptokokkeninvasion im Organismus mit folgender Sensibilisierung. Die Streptokinase hat also eine starke antigene Wirkung.

2a. Aktivierung des fibrinolytischen Systems durch Streptokinase

Im gesunden Organismus sollen Gerinnung und Fibrinolyse in einem dynamischen Gleichgewicht stehen (17). Das Plasminogen des Menschen hat im Gegensatz zum Plasminogen vieler anderer Spezies die Eigenschaft mit Streptokinase sowohl Aktivator als auch Plasminogen selbst zu bilden. Diese Reaktion beruht auf folgender Arbeitshypothese von HEIMBURGER (15):

Proaktivator und Plasminogen sind auf einem Proteinmolekül lokalisiert, also ist der Proaktivator kein selbständiges Protein neben dem Plasminogen im Humanplasma. Für dieses Molekül hat man den Terminus PROAKTIVATOR-PLASMINOGEN (PP) eingeführt. Die maximale Aktivator-Aktivität wird bei einem Molverhältnis von PP: Streptokinase wie 1 : 1 erreicht. Bei den dazwischen liegenden Konzentrationen der Streptokinase (SK) sind Plasmin und Aktivator nebeneinander existent. Ein bestimmter SK-Dosisabhängiger Anteil des Plasminogens bildet dabei mit der zugeführten Streptokinase Aktivator, der die gleiche Spezifität wie Urokinase hat. Es wurde sogar diskutiert, daß die Urokinase mit diesem Aktivator identisch sei, was aber nicht wahrscheinlich ist (16).

Dieser Aktivator kann dann weiteres Plasminogen in Plasmin umwandeln. Daraus folgt, daß Streptokinase also kein Enzym ist und die PP-Aktivierung nicht enzymatisch erfolgt (HUMMEL).

2b. Inhibitoren der Streptokinase

Als Folge einer Streptokokkeninvasion in den Organismus entsteht bei der immunologischen Reaktion die Antistreptokinase nach der Sensibilisierung. Diese Antistreptokinase richtet sich nicht gegen Plasmin, sondern gegen Streptokinase selbst. Die Höhe der Antistreptokinase bestimmt man in einem SK-Resistenztest nach FLETCHER und DEUTSCH.

2c. Theorien über den Mechanismus des enzymatischen Vorgangs im und am Thrombus (38)

Es besteht heute noch keine einheitliche Vorstellung vom Mechanismus des enzymatischen Vorgangs bei der Thrombolyse. Im wesentlichen werden fünf Theorien diskutiert.

1. Endogene Lyse: Streptokinase dringt in den Thrombus ein und aktiviert das im Thrombus angereicherte und die Fibrinfäden umschließende Plasminogen zu Plasmin. Das entstehende Plasmin löst dann die Fibrinlamellen auf. Eine exogene Lyse sei von untergeordneter Rolle, falls ihr überhaupt eine Bedeutung zukommt (SHERRY, 1959).

2. Exogene Lyse: Plasmatisches Plasmin bildet mit Antiplasmin einen Komplex, der sich durch die starke Affinität des Plasmins zum Fibrin wieder aufspaltet und damit Plasmin exogen den Thrombus lysiert. (AMBRUS und MARKUS, 1960).ä

3. Exogene Lyse durch Adsorption des Plasmatischen Plasminogens: Streptokinase dringt in den Thrombus ein, in dem Plasminogen aber nicht angereichert, sondern eher vermindert ist. Diese Verminderung wird durch die Retraktion und damit verbundene Exprimierung erklärt. Es kommt zu einer Adsorption von Plasminogen an der Thrombusoberfläche und zur Aktivierung zu Plasmin durch die im Plasma befindliche Streptokinase (FANTL und DUDOK de WIT, 1962).

4. Exogene und endogene Randlyse am Thrombus: Nicht nur Streptokinase dringt in den Thrombus ein, sondern auch Plasminogen. Gleichzeitig wird ein Teil des plasmatischen Plasminogens aber auch an der Thrombusoberfläche adsorbiert. Es kommt zu einer Lyse in den Randgebieten des Thrombus (OGSTEN und FALLERTON, 1966).

5. Endogen induzierte Exolyse und Endolyse mit Berücksichtigung der Inhibitoren:

Im Plasma wird Plasminogen durch Streptokinase in Aktivator übergeführt. Dabei bleiben nur geringe Plasminmengen im Plasma übrig. Sie können zum Teil direkt zu Plasmin gespalten werden. Die Plasmininhibitoren werden weitgehend durch Streptokinase inaktiviert, auch im Thrombus selbst, so daß die geringen Plasminogen- bzw. Plasminmengen ausreichen um eine Thrombolyse zu bewirken. Es kommt zur Adsorption des plasmatischen Plasminogens am Thrombusrand und zur Aktivierung zu Plasmin durch die außerhalb und innerhalb des Thrombus befindliche Streptokinase (GOTTLOB und BLÜMEL, 1966).

3. Wirkungsmechanismus von ASPERGILLINASE (Protease I)

Aspergillinase, auch Proteinase I genannt, ist eines der drei Enzyme, die von dem Pilz *Aspergillus oryzae* produziert werden (7). Sie ist ein proteolytisches Enzym, wie auch Plasmin, das Fibrin direkt angreift. Sie wirkt aber nicht spezifisch nur fibrinolytisch. Dieses Enzym baut so verschiedene Substanzen an wie Gelatine, Casein, denaturiertes Hämoglobin, verschiedene synthetische Ester, Fibrinogen und eben besonders Fibrin (7). Die fibrinolytische Aktivität von Aspergillinase ist stärker als die caseinolytische; sie spaltet aber in gleicher Rate wie Fibrin das inaktive Fibrinogen. Das pH-Optimum ist für die einzelnen Proteine unterschiedlich. Für Fibrin liegt es zwischen pH 7,6 und pH 9,5 (8,5).

Die Aktivität ist auch von der Temperatur abhängig: nach 30 min bei 30°C ist die Aktivität noch 100 %, bei 40°C ist sie nach 30 min noch 94 %, bei 50°C sinkt die Aktivität nach 30 min auf 10 % herab (7). Die starke Adsorption von Proaktivator-Plasminogen zu Fibrin hat vor einigen Jahren zu der Erklärung der hohen fibrinolytischen Aktivität des daraus entstehenden Plasmins geführt (15). Man hat versucht, die große lytische Aktivität von Protease I zu Fibrin in ähnlicher Weise zu deuten. Es war aber nicht möglich, eine Adsorption von Aspergillinase zu Fibrin nachzuweisen (16). Daraus folgerte man, daß Fibrin die spezifischen Erfordernisse, die nicht näher definiert worden sind, von Aspergillinase besser erfüllt als andere Proteine.

3b. ASPERGILLINASE-Inhibitoren

Spezifisch gegen Aspergillinase gerichtete Inhibitoren hat man nicht nachweisen können (18). Man nimmt aber an, daß die Antiplasmine identisch sind mit den körpereigenen Aspergillinase-Inhibitoren. Einen hemmenden Effekt auf Aspergillinase haben noch Natrium-Laurylsulfonat und Laurylamin, sowie Ascorbinsäure, aber nur als sehr schwacher Inhibitor.

Epsilon-Aminokapronsäure hat auf Aspergillinase überhaupt keinen hemmenden Einfluß (18).

III. BEGRÜNDUNG UND THEMA DER ARBEIT

Seit man die Streptokinase durch die Fortschritte in der Reinigungstechnik in der notwendigen Dosierung klinisch anwenden kann (1957), hat sich ein besonders starkes Interesse auf dem Gebiet der fibrinolytischen Forschung, speziell auf Probleme im Bereich der Entwicklung thrombolytischer Behandlungsformen und ihrer Anwendungen konzentriert. Eine große Anzahl von Experimenten wurden in vitro und am Tier durchgeführt, um den Wert dieser Medikamente unter Beweis zu stellen und die therapeutischen Grenzen abzustecken. Frühere klinische Beobachtungen sprachen dafür, daß das Alter eines Verschlusses eine dieser Grenzen ist. Er sollte nicht älter als drei bis maximal fünf Tage bestehen, um eine Auflösung oder wenigstens eine Verkleinerung zu erreichen. In der vorliegenden Arbeit wollten wir versuchen einen Beitrag und eine Ergänzung zu diesen Experimenten zu bringen. Es soll die Wirkung von Streptokinase und Aspergillinase auf in vitro entstandene Gerinnsel aus Humanblut und auf operativ gewonnene menschliche Thromben verschiedenen Alters sowie auf thrombotisches Material, das in Intimaschläuchen enthalten war, in einem in-vitro-System untersucht werden.

IV. MATERIAL, REAGENTIEN und METHODIK

1. MATERIAL

a) Herstellung der In-vitro-Gerinnsel

Von gesunden Versuchspersonen wurde venöses Blut mit einer 20 ml Kunststoff-spritze steril und ohne weitere Zusätze abgenommen. Das Blut wurde dann in nicht silikonisierte Thrombinföhrchen aufgeteilt zu je 1,2 bis 1,5 ml. Wir wählten die nicht silikonisierten Gläser, um eine maximale Retraktion zu bekommen. Die Größe der Gerinnsel war so gewählt worden, daß sie bei der Inkubation in Zentrifugenspitzgläser von allen Seiten gut mit der umgebenden Lösung "bespült" werden konnten und an allen Seiten gleichmäßigen Kontakt hatten mit der Lösung. Die Thrombinröhrchen kamen dann für 1-24-48-72 Stunden in ein Wasserbad von 37⁰C. Vorher wurden sie noch gut mit sterilen Gummistopfen verschlossen, um ein Austrocknen zu vermeiden und um die Sterilität zu erhalten. (Methode nach Ludwig) (27).

b) Operativ gewonnenes Material

Das operativ gewonnene Material stammte von 35 männlichen und von 5 weiblichen Patienten. Untersucht wurde:

1. thrombotisches Material aus der Aorta abdominalis,
2. thrombotisches Material aus der A. iliaca com.,
3. thrombotisches Material aus der A. iliaca int.,
4. thrombotisches Material aus der A. iliaca ext.,
5. thrombotisches Material aus der A. femoralis superf.,
6. thrombotisches Material aus der A. poplitea,
7. thrombotisches Material aus der A. brachialis,

8. Intimaschläuche mit thrombotischem Material, die mit der Stripping-Methode gewonnen wurden und aus der Arteria iliaca communis, externa und interna stammten.

Altersbestimmung:

Die Altersbestimmung des menschlichen thrombotischen Materials wurde auf Grund der Anamnese angenommen. Bei einigen Gerinnseln konnte an Hand einer früheren Angiographie ein bestimmtes Alter mit einiger Sicherheit bestimmt werden. Die Altersangaben liegen zwischen 20 Stunden und einer zehnjährigen Anamnese.

Die Aufteilung des Materials wurde so vorgenommen, daß die einzelnen Stücke eine vergleichbare Größe hatten. Die Schnittführung richtete sich nach der Größe und Form des Materials. Thromben aus der Aorta abdominalis hatten etwa einen Querdurchmesser von zwei Zentimetern. So hatten sie ein Ausmaß, daß sie von allen Seiten während des Versuches von der sie umgebenden Lösung gespült werden konnten. Material aus der Arteria femoralis wurde in den meisten Ansätzen nur querschnitt, aber auch einige Male längsgeteilt, um vergleichende Untersuchungen zu haben.

2. REAGENTIEN

a) Streptokinase

Als indirekt thrombolytisch wirkende Substanz haben wir Rein-Streptokinase der Firma Behring, Marburg/Lahn verwandt (STREPTASE^R). Die Streptokinase wurde uns als Trockensubstanz in Testampullen mit je 5000 Christensen-Einheiten (ChE) zur Verfügung gestellt. Sie wurde mit 0,9 %-iger Natrium-Chlorid-Lösung von einem pH-Wert mit 4,5 bzw. 7,4 aufgelöst, so daß eine Stammlösung von 1000 ChE/ml entstand.

Die Streptokinase wurde in Konzentrationen zwischen 5 und 500 ChE/ml angewandt.

b) Aspergillinase

Aspergillinase der Firma Astra, Södertälje-Schweden vom Satz 17047 wurde uns in Flaschen zu je 50 mg Protease I steril abgefüllt. Es war ebenfalls ein Trockenpräparat.

Die von der Firma Astra durchgeführte kaseinolytische Aktivitätsbestimmung ergab einen Wert von 18 CU/mg. Der Pyrogentest verlief negativ. Das Trockenpräparat wurde bei 4°C gelagert, wie auch die Streptokinase-Präparate. Die Aspergillinase soll bei dieser Lagerungstemperatur mehrere Jahre stabil sein. Lösungen können nach Angabe der Firma im Kühlschrank bei 4°C etwa 24 Stunden ohne Aktivitätsverlust aufbewahrt werden.

Wir lösten Aspergillinase ebenfalls in 0,9 %-iger Kochsalzlösung vom pH-Wert 7,4, so daß eine Stammlösung von 1,0 mg/ml bzw. 1,5 mg/ml entstand. Die Aspergillinase-Konzentrationen lagen bei den Versuchen zwischen 1,5 mg/ml und 0,025 mg/ml.

3. METHODIK

a) Versuchsanordnung und Durchführung

Nach der operativen Gewinnung kam das Material in sterile physiologische Kochsalzlösung. Bis zur Verarbeitung, also bis zum eigentlichen Versuchsbeginn, vergingen nie mehr als maximal 5 Stunden. Das zu untersuchende Material wurde zum Teil an Kanülendrähten aufgehängt, die an Gummistöpseln befestigt waren und am Ende zu einem Häkchen umgebogen waren. Vorher wurden die Nativblutgerinnsel und auch das operativ gewonnene Material in 0,9 %-iger Natrium-chlorid-Lösung gewaschen, die so oft erneuert wurde bis sie nahezu klar blieb. Dann wurde das an den Kanülenmandrinen befestigte Versuchsmaterial in Spitzgläser eingebracht, so daß sie von allen Seiten gespült werden konnten. Die Spitzgläser waren jeweils mit 8 ml Streptokinase-Lösung, bzw. mit Aspergillinase-Lösung oder mit beiden

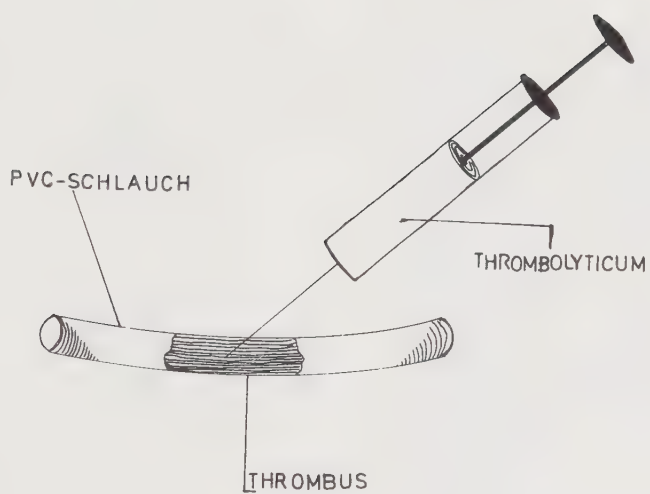
Lösungen gleichzeitig bzw. mit 8 ml 0,9 %-iger Kochsalz-Lösung gefüllt. Die Versuchsgläser hatten einen Durchmesser von 0,9 bis 1,0 cm und eine Länge von 10,0 cm. In einigen Versuchen haben wir thrombotisches Material, teils auch mit Intimaschläuchen umgeben, die mit der Stripping-Methode gewonnen worden waren, in silikonisierte PVC-Schläuche eingebracht. Dabei richtete sich der Durchmesser der Schläuche nach der Größe des Materials, während die Länge des Schlauches immer 8 cm war. Es sollte an den Längsseiten ein fester Kontakt mit dem Untersuchungsmaterial bestehen, aber es durfte nicht durch diese künstliche Hülle komprimiert werden. Wir haben diese "künstlichen Gefäße" mit thrombolytisch wirkender Lösung gefüllt oder sie in die Lösung gelegt. Bei einigen Experimenten haben wir die Lösung von außen durch den PVC-Schlauch hindurch injiziert, so viel bis in dem Schlauch 1 bis 2 cm³ Lösung an beiden Seiten des Thrombus überstand.

Die Schläuche wurden an beiden Enden fest verschlossen, wenn sie nicht in die Lösung selbst gebracht wurden. Die verschlossenen Schläuche kamen dann in leere Spitzgläser, um während des Versuches im Wasserbad von 37°C aufbewahrt werden zu können. Bei allen Versuchen führten wir Kontrollansätze mit 0,9 %-iger Kochsalzlösung durch.

Die festverschlossenen Spitzgläser wurden nach der Beschickung in ein Wasserbad von 37°C eingebracht und nur zur Erneuerung der Lösungen und zur Messung der Volumina herausgenommen.

b) Volumenbestimmung

Diese Volumenmessung des Materials wurden in einer Meßbürette durch Verdrängung der darin enthaltenen Kochsalzlösung bestimmt, jeweils in Doppelmessungen. Das Volumen wurde immer zu Beginn des Experiments und dann weiter zu verschiedenen Zeiten bestimmt.



MODELL „KÜNSTLICHES GEFÄß“

Einige Ansätze haben wir photographisch registriert. Die Versuchsdauer lag zwischen 3 min und 120 Stunden. Die Lösungen wurden 1/2-stündlich, bzw. etwa 24-stündlich erneuert. Die Versuche, bei denen es uns darauf ankam zu sehen, wie weit eine Volumenverminderung möglich ist, brachen wir erst nach einem 24-stündigen Lysestillstand ab.

In den folgenden Tabellen sind die Angaben über das operativ gewonnene Material einzeln aufgeführt.

Ver- such Nr.	Alter und Ge- schlecht	Verschlußloka- lisation	Materialent- nahme	Anamnese	Bemerkungen (Risikofaktoren)
8	56 J. ♂	Aorta abd. A. iliaca communis re. u. li. A. iliaca sinistra	Aorta abdominal	Seit 10 Jahren zunehmende Clau- dicatio inter- mittens-Bescher- den, re li Gehstrecke 150 m	20-25 Zigaretten pro die
9	49 J. ♂	A. iliaca interna A. iliaca externa sinistra A. fem. sup. sinistra	A. iliaca externa sinistra	Seit 3 Monaten Claudicatio in- termittens Be- schwerden im li. Bein; vor 4 1/2 Tagen plötzlich Ruheschmerz und Kältegefühl, Geh- strecke 150-200 m vorher, jetzt 0 m	4-6 Zigaretten pro die Pat. hatte vor zwei Jahren eine Nephrektomie re; 2 Monate p. Op. aorto-renaler Bypass li.
10	64 J. ♂	A. iliaca communis links	A. iliaca communis links	Seit einigen Jah- ren Schmerzen in bd. Beinen li re; Ruheschm. seit 1 Jahr, Geh- strecke 100 m	10 Zigaretten pro die, OP wurde durchgeführt, weil die Kollateralisation spärlich war
11	61 J. ♂	A. iliaca communis u. int. + ext. re A. iliaca ext. li	A. iliaca com. re	Seit 3-4 Jahren Schmerzen in bd. Unterschenkeln, hauptsächlich in den Waden, Kälte- gefühl seit 3-4 J. Gehstrecke 50 m	12 Zigaretten pro die
12	60 J. ♂	A. iliaca communis rechts	A. iliaca communis rechts	Seit 11 1/2 Jahren Schmerzen im re. Oberschenkel und Wade, zeitweise Kältegefühl, Geh- strecke 30-40 m	12 Zigaretten pro die

Ver- such Nr.	Alter und Ge- schlecht	Verschlußloka- lisation	Materialent- nahme	Anamnese	Bemerkungen (Risikofaktoren)
13	74 J. ♂	A. fem. sup. re. A. iliaca communis +A. iliaca int. + ext. links A. fem. sup. li.	A. iliaca com. li	Seit einem 3/4 J. krampfartige Schmerzen in bd. Waden, li re., Kältegefühl zeit- weise, Gehstrek- ke 5 min.	Seit 4 Monaten Nichtraucher, vor- her ca. 12 Ziga- retten pro die
14	56 J. ♂	Hochgradi- ge Stenose der A. ili- aca commu- nis links	A. iliaca com. li.	Seit 2 Jahren Claudicatio in- termittens-Beschwerden im li Fuß, Kältegefühl seit 1 Jahr, Geh- strecke 100 m Ruheschm. seit 11 1/2 Jahren	20 Zigaretten pro die
15	37 J. ♂	Aorta abd. A. iliaca communis re + li	A. iliaca communis links	Seit 1 Jahr Claudi- catio intermittens Beschwerden in bd. Beinen, Ruhe- schmerz seit 3 Monaten, Geh- strecke 100 m	20 Zigaretten pro die, Hyperchole- sterinämie von 500 mg% (Leriche Syndrom)
16	46 J. ♂	Aorta abd. A. iliaca com. re + li A. iliaca int. u. ext. links	A. iliaca com. li	Seit 3 Wochen plötzlich auftre- tende Waden- krämpfe links, Kältegefühl u. Ru- heschmerz seit 3 Wochen. Varizen seit 2 Jahren arte- riosklerotisches Verschlußleiden be- steht seit ca. 4 1/2 Jahren	15 Zigaretten pro die

Ver- such Nr.	Alter und Ge- schlecht	Verschlußloka- lisation	Materialent- nahme	Anamnese	Bemerkungen (Risikofaktoren)
17	56 J. ♂	Aorta abd. A. iliaca com. re + li A. iliaca int. links	Aorta abd.	Seit 4 Jahren Wa- denschmerzen li, seit 1/4 Jahr auch rechts, seit 4 Ta- gen Ruheschmerz im li Unterschen- kel, Gehstrecke bis vor 4 Tagen 100 m	15-18 Zigaretten pro die
18	54 J. ♂	A. iliaca ext. links	A. iliaca ext. links	Seit 4 Jahren Schmerzen im Ober- u. Unter- schenkel links, bis zur Ferse ausstrah- lend, Kältegefühl seit 3 Jahren, Ruhe- schmerz seit 3 J.	5 Zigaretten pro die; Pat. hat seit 10 Jahren Asthma bronchiale
19	--- ♂	A. femor. superfici. rechts	A. fem. superf. re	OP vor 8 Tagen we- gen eines Verschlus- ses d. A. fem. superf. rechts bei stark ausge- prägten endangiti- schen Veränderungen; Rethrombosierung nach 4 Tg.	---
20	57 J. ♂	A. iliaca communis links (Stenose)	A. iliaca com. li	Seit 3/4 Jahr Claudi- catio-intermittens- Beschwerden, Kälte- gefühl seit 3/4 J. Gehstrecke 200-300 m	20 Zigaretten pro die, seit 3 Monaten Nicht- raucher; erhebli- che Adipositas
21	58 J. ♂	A. iliaca ext. re A. femoral. superf. re,	A. iliaca externa rechts	Seit einem Jahr Claudicatio inter- mittens-Beschwer- den, Kältegefühl seit 1/2 Jahr, Geh- strecke 50 m	20 Zigaretten pro die; Diabetes mellitus seit 5 Wochen bekannt (350 mg%)

Ver- such Nr.	Alter und Ge- schlecht	Verschlußloka- lisation	Materialent- nahme	Anamnese	Bemerkungen (Risikofaktoren)
22	80 J. ♀	A. femoral. superf. li	A. femoral. superf. li	Akuter Femoralis- Verschluß li durch eine Embolie im Bein, bei dekom- pensierter Herz- insuffizienz mit exzessiver Tachypnoe	Patientin verstarb 25 Std. p. OP
23	63 J. ♂	A. femoral. superf. re + li vom Abgang bis zur A. poplites	A. femoral. superf. li	Seit 2 Jahren zu- nehmende krampf- artige Schmerzen vor allem in der li. Wade, Geh- strecke 50 m	RR 250/110
24	63 J. ♂	A. iliaca communis re, A. fem. sup. +A. poplit. rechts	A. iliaca communis rechts	Seit 1/4 Jahr zu- nehmende Clau- dicatio inter- mittens-Beschw. im rechten Bein, Ruheschmerz u. Kältegefühl seit 4 Wochen, Gehstrek- ke 50 m	12 Zigaretten pro die, vor 7 Jahren Apoplexie mit linksseitiger Parese
25	45 J. ♂	A. iliaca communis links	A. iliaca com. li	Vor 2 1/2 Mona- ten traten zum er- sten Mal Schmer- zen im linken Bein auf, Kältegefühl seit dieser Zeit, Gehstrecke 100 m	25-30 Zigaretten pro die
26	78 J. ♂	A. iliaca ext. re + li, A. fem. sup. re + li, A. poplitea rechts	A. iliaca ext. re	Seit 1 1/2 Jahren Claudicatio inter- mittens-Beschwer- den, vor 3 Wochen akutes Schmerzer- eignis im re Fuß, Ruheschmerz, Geh- strecke war vorher 100-150 m, jetzt ist sie 30 m	Angiographisch erhebliche Wand- verkalkungen nach- gewiesen

Ver- such Nr.	Alter und Ge- schlecht	Verschlußloka- lisation	Materialent- nahme	Anamnese	Bemerkungen (Risikofaktoren)
27	58 J. ♂	A. iliaca com. li A. iliaca int. li A. iliaca ext. li + re A. fem. sup. rechts	A. iliaca com. li	Seit 4 Jahren Claudicatio in- termittens-Be- schwerden rechts, seit 1 Jahr auch li, Kältegefühl seit 4 Jahren, Gehstrecke 50 m	20 Zigaretten pro die, Diabetes mellitus seit 2 Jahren bekannt, vor 20 Jahren Magenresektion nach Billroth II wegen Duodenal- ulcus
28	56 J. ♂	A. fem. sup. u. A. fem. profunda rechts	A. fem. sup. rechts	Vor 8 Tagen OP einer Narbenher- nie nach Appen- dektomie, deswe- gen Unterbrechung der Antikoagulan- tientherapie	Patientin hatte vor 7 Monaten 3 Tage nach der Appendektomie im li Bein eine Embo- lie, die operativ ent- fernt werden konnte
29	56 J. ♂	A. poplitea u. A. tib. post. li A. iliaca com. li und A. fem. sup. erheblich stenosiert	A. poplitea links	Vor 1 Monat plötz- lich Schmerzen im li Fuß, die nicht wieder weggingen, seit 1 Woche blau- rote Verfärbung der li Großzehe, Geh- strecke jetzt 0 m, Ruheschmerz seit 1 Monat	2-3 Zigaretten pro die
30	44 J. ♂	A. iliaca com. u. ext. + int. re A. iliaca com. und A. fem. sup. links er- heblich steno- siert	A. iliaca ext. re	Seit 8 Jahren in bd. Beinen Claudicatio intermittens-Be- schwerden, re li, seit 2 1/2 Monaten Krämpfe im rech- ten Fuß, Kältege- fühl seit 8 Monaten, Gehstrecke 50-100 m, oft auch nur 30 m.	30-60 Zigaretten pro die, 2-3 Liter Bier pro die, Pat. war 6 Jahre Gastwirt

Ver- such Nr.	Alter und Ge- schlecht	Verschlußloka- lisation	Materialent- nahme	Anamnese	Bemerkungen (Risikofaktoren)
31	61 J. ♂	A. axillaris links A. brachialis links	A. axillaris links	25 Stunden alte Embolie, der li. Arm wurde unter starken Schmer- zen weiß und kalt	RR 250/100
32	42 J. ♀	Aorta abd. A. iliaca com., int. u. ext. beid- seitig A. fem. sup. re + li. A. fem. prof. rechts alle Unter- schenkelart. re.	Aorta abd.	Gefäßverschlüsse seit 1 Jahr angio- graphisch gesi- chert, vor 9 Wo- chen akutes Schmerzereig- nis im rechten Bein, Ruheschmerz und Ischämie, vor 1 Jahr schon ein- mal OP mit Wiederher- stellung der Passage nach Gefäßverschuß des re Beins	20 Zigaretten pro die, pos. Spirochä- ten-Agglutination- Test im Liquor cerebrosp.
33	71 J. ♂	Femoralis- gabel re	Femoralis- gabel re	Vor 8 Wochen be- merkte der Pat. in der re Leistenbeuge einen enteneigroßen pulsierenden Tumor, (Nahtaneurysma) 1958 erstmals Gehbe- schwerden, vor 9 Jahren femoropoplitea- ler-Dacron-Bypass	---
34	44 J. ♂	A. iliaca com. u. ext. + int. re A. iliaca com. und A. fem. sup. links	A. femoral superf. li.	Siehe Versuch Nr. 30, jetzt ist der li. Fuß weiß, pulslos u. ohne Gefühlsempfindun- gen	Siehe Versuch Nr. 30

Ver- such Nr.	Alter und Ge- schlecht	Verschlußloka- lisation	Materialent- nahme	Anamnese	Bemerkungen (Risikofaktoren)
35	66 J. ♂	A. fem. sup. rechts A. iliaca com. li stenosiert	A. fem. sup. rechts	Seit 1 Jahr Claudi- catio intermittens Beschwerden, re li besonders in der Wade und im Fuß, rechts jetzt akut Verschlechter- ung, Kältegefühl seit 4-5 Jahren, Ruheschmerz seit 4 Wo. Gehstrecke 50 m	15 Zigaretten pro die
36	--- ♂	A. fem. prof. re + li A. fem. sup. links Unterschen- kelart. re + li	A. fem. sup. links	Seit ca. 7 Jahren Claudicatio inter- mittens-Beschwer- den, linksseitig wur- de vor 6 Jahren schon eine lumbale Sympathektomie, so- wie eine Endarteri- ektomie der A. fem. sup. vorgenommen	---
37	20 J. ♀	A. iliaca ext. re	A. iliaca ext. re	Vor 9 Tagen selek- tive Katheterangio- graphie, Punktion d. A. fem. sup. rechts, daraufhin Krämpfe im re Bein, Kältegefühl seit 8 Tagen, Gehstrecke 100 m	3 Zigaretten pro die
39	34 J. ♂	A. iliaca	A. fem. sup.	Seit etwa 3 Jahren Claudicatio inter- mittens-Beschwer- den, vor 8 Tagen plötzlich stärkerer Wadenschmerz li	20-30 Zigaretten pro die, Hypercholesterin- ämie von 420 mg%

Ver- such Nr.	Alter und Ge- schlecht	Verschlußloka- lisation	Materialent- nahme	Anamnese	Bemerkungen (Risikofaktoren)
40	73 J. ♀	A. iliaca ext. re, A. fem. sup. links	A. iliaca links	33 Stunden alte Embolie mit Appositionsthrom- bose	---
41	69 J. ♂	A. iliaca int., ext. li, A. iliaca int. rechts, A. fem. sup. re + li, Unterschenkel- arterien re + li	A. iliaca com. li	Seit 1 Jahr Schmerzen in bei- den Waden (li re), Kältege- fühl seit 1/2 Jahr, Gehstrecke 100 m	40 Zigaretten pro die
42	67 J. ♂	A. iliaca ext. re + li A. fem. sup. re + li Unterschenkel- art. li	A. iliaca ext. li	Kältegefühl und Ruheschmerz seit 3 Monaten, Geh- strecke 100 m	22 Zigaretten pro die bis vor 3 Mo- naten, jetzt Nicht- raucher, latenter Diabetes, labiler Hypertonus
44	--- ♂	A. iliaca ext. re, A. fem. prof. +superf. re, Unterschenkel- art. re	A. iliaca ext. re	Seit 1/2 Jahr Claudicatio inter- mittens-Beschwer- den im re Unter- schenkel und Fuß, Kältegefühl zeitwei- se, Ruheschm. seit 1/2 Jahr	36 Zigaretten pro die
45	66 J. ♂	Aorta abd. A. iliaca com., int., + ext. li A.fem. superf. re + li	A. iliaca communis links	Seit 3 Jahren zuneh- mende Claudicatio intermittens-Be- schwerden, Kälte- gefühl seit 3 Jahren Ruheschmerz seit 1 Jahr zunehmend, Beinlagerung hän- gend seit 8 Wochen	12 Zigaretten pro die

Ver- such Nr.	Alter und Ge- schlecht	Verschußloka- lisation	Materialent- nahme	Anamnese	Bemerkungen (Risikofaktoren)
46	49 J. ♂	A. iliaca ext. re + li	A. iliaca ext. li	Seit 3 Jahren Schmerzen und Krämpfe in bei- den Unterschen- keln und Füßen li re, Kältege- fühl seit 3 J., Gehstrecke 30- 50 m	6-7 Zigaretten pro die
47	36 J. ♂	A. iliaca com.+ ext.re A. fem. prof. und superf. rechts	A. iliaca ext. re	20 Stunden alter Verschuß durch art. Embolie bei chron. Osteomyeli- tis nach Unterschen- kelfraktur, bei der Aufnahme kaltes Bein	---
48	66 J. ♂	A. femoral. superf. bds.	A. fem. superf. +Aneurys- ma an der Femoralis- gabel li	Seit 3 Monaten in beiden Leistenge- genden, Kältege- fühl zeitweise	von 1918-1948 10 Zigaretten pro die
49	51 J. ♂	A.fem.sup. beidseits	A.femor. sup.links	Seit 3 Jahren Claudicatio inter- mittens-Beschwer- den in beiden Bei- nen, vor einem Jahr TEA der A. iliaca u. A. fem. superf.re sowie lumbale Sympathek- tomie rechts, guter Erfolg, jetzt nur noch im li Bein Beschwerden	---

Ver- such Nr.	Alter und Ge- schlecht	Verschlußlokali- sation	Materialent- nahme	Anamnese	Bemerkungen (Risikofaktoren)
50	67 J. ♂	Aorta abd., A. iliaca com.re + li A.iliaca int. u. ext. links, A. fem.sup.	A.iliaca com. und ext. links	Seit 2 Jahren krampfartige Schmerzen in bd. Waden (re li), Ulcus an d. li Großzehe seit 5 Monaten, Kältegefühl seit einigen Monaten, Gehstrecke nur einige Schritte	3-4 Zigaretten pro die

V. HISTOLOGISCHE BEARBEITUNG

Nach Beendigung der Versuche wurde das Untersuchungsmaterial in 4 %-igem neutralem Formalin fixiert. Wir verwendeten bei der Entwässerung nach der aufsteigenden Alkoholreihe Methylbenzoat (2 mal ca. 24 Stunden). Danach kam das Material für 2 mal 20 min in Xylol. Die Präparatstücke wurden im Brutschrank bei 60°C etwa 15 Stunden in Paraffin aufbewahrt und anschließend noch einmal für 4 Stunden in verflüssigtes Paraplast, ebenfalls bei 60°C, gelegt. Wir betteten danach alle Präparate in Paraplast ein.

Nachdem die Paraplast-Blöckchen gut abgekühlt und auf kleinen Holzklötzen aufblockt waren, kamen sie in den Kühlschrank mit einer Temperatur von 4°C. Sie wurden bei dieser Temperatur unmittelbar bis zum Schneiden aufbewahrt, mindestens aber ließen wir die Blöckchen 24 Stunden nach der Ausbettung im Kühlschrank. Wir verwendeten ein Mikrotom mit einem C-Messer. Die Präparate hatten eine Stärke von 4 bis 6 μ und wurden stufenweise geschnitten.

Nachdem sie auf die Objektträger aufgebracht waren, die mit RUYTER'scher Strecklösung betropft waren, kamen sie für etwa 12 Stunden zum Nachstrecken in einen Brutschrank von 45°C. Wir entparaffinierten in Xylol (2 mal 20 min). Nach der aufsteigenden Alkoholreihe färbten wir die Zellkerne mit Eisenhämatoxylin nach WEIGERT (Lösung A : B = 1 : 1). Die Schnitte wurden dann nach einer von MALLORY-HEIDENHAIN angegebenen Methode, modifiziert von LADEWIG (19), gefärbt. Bei dieser Fibrinfärbung nimmt das Fibrin ein leuchtendes Kardinalrot an, das Bindegewebe wird blau, blauviolett, rotviolett bis karminrot, je nach Beschaffenheit und Struktur. Bei einem Teil der Präparate führten wir neben der LADEWIG-Färbung noch die van GIESON- und die Hämatoxylin-Eosin-Färbung durch, besonders bei den Präparaten, bei denen es um die Beurteilung der Organisation des thrombotischen Gewebes ging.

VI. ERGEBNISSE

1. IN VITRO ENTSTANDENE GERINNSEL AUS NATIVBLUT

a) Konzentrationen der Streptokinase

Bei unseren ersten Versuchansätzen wollten wir bei 24 Stunden alten Nativblutgerinnseln sehen, ob die Lyse von der Konzentration der Streptokinase abhängig ist, nachdem wir schon vorher festgestellt hatten, daß grundsätzlich eine Lyse oder zumindest eine Teillyse dieser Gerinnsel möglich ist. Die Konzentrationen wählten wir zwischen 5 ChE/ml und 150 ChE/ml. Das Optimum der Lyserate lag zwischen 50 und 150 ChE/ml, aber auch bei den niedrigeren und höheren Konzentrationen kam es noch zu einer deutlich meßbaren Lyse. Diese optimalen Konzentrationen entsprechen etwa denen der thrombolytischen Therapie. Nur in einem Fall kam es bei diesen 24 Stunden alten Nativblutgerinnseln zu einer totalen Auflösung. Wir stellten hinterher fest, daß das Blut von dieser Versuchsperson einen extrem niedrigen SK-Resistenztest nach FLETCHER und DEUTSCH hatte.

Die maximale Lyse der anderen Ansätze in dieser Altersgruppe lag bei 80 % Volumenverminderung bei einem durchschnittlichen Lysestillstand nach 70 Stunden Versuchsdauer. Die Lösungen in den Spitzgläsern wurden jeweils nach 24 und 48 Stunden Versuchsdauer erneuert. Die geringste Lyse lag bei 40 % Verkleinerung vom Ausgangsvolumen.

Das Volumen der Kontrollansätze in physiologischer Kochsalzlösung verringerte sich im Durchschnitt zu 5 %, wobei die meisten Gerinnsel überhaupt keine Lösung zeigten und nur in einem Ansatz eine Volumenabnahme von 17 % gemessen werden konnte.

b) Alter der Gerinnsel in Abhängigkeit von dem Auflösungsvermögen mit Streptokinase

Bei den Gerinnseln, die 48 und 72 Stunden alt waren, bekamen wir bei allen Konzentrationen eine nahezu vollständige Lyse. Sie lag zwischen 90 und 100 %, während sie bei den Kontrollgerinnseln, die in 0,9 %-iger NaCl-Lösung gebracht waren, nicht meßbar war, was auch durch den fehlenden Erythrocytensatz in der Spitze des Glases bestätigt wurde.

Gerinnsel, die 11/2 Stunden nach der Blutentnahme in die Streptase-Lösungen inkubiert wurden, zeigten eine etwas höhere Lyserate als die Gerinnsel, die erst nach 24 Stunden in die Lösungen inkubiert wurden.

Der Lysestillstand trat bei diesen Gerinnseln schon nach 24 Stunden ein, wenn die Streptase-Konzentrationen bei 50 bis 500 ChE/ml lagen. Waren die Konzentrationen hingegen bei 25 ChE/ml, dann trat der Lysestillstand erst nach 48 Stunden ein, während die Skelettierung bei Streptase-Konzentrationen von 5 ChE/ml noch bis zu 72 Stunden weiterging.

Wenn die Lösungen jeweils halbstündlich statt 24 stündlich ausgewechselt wurden, dann trat der Lysestillstand erheblich eher ein, nämlich schon nach 7 Stunden, statt nach 48 Stunden. Das Endergebnis der Lyserate blieb im Durchschnitt aber das gleiche.

Auffallend war in allen Ansätzen, daß der Anteil des Gerinnfels, der bei der Retraction unten war, immer zuerst skelettisiert und lysiert wurde, während der obere Anteil, besonders die Deckschicht, nur bei den 72 Stunden alten Gerinnfeln angegriffen wurde. Wenn wir die Koagula mit dem unteren Ende nach oben an die Haken in die Lösungen hingen, dann lösten sie sich schon nach wenigen Stunden ab und fielen zu Boden.

c) Aspergillinase

Wir setzten 24 Stunden alte Nativblutgerinnsel in der beschriebenen Anordnung mit Aspergillinase-Lösungen an. Die Konzentrationen lagen zwischen 1,5 mg/ml und 0,025 mg/ml (1,5-1,0-0,5-0,025 mg/ml). Dabei konnte man makroskopisch in allen Ansätzen deutlich rote Schlieren zu Boden sinken sehen, wie wir es bei den Versuchsansätzen mit Streptase zwar auch beobachteten, aber doch niemals so stark, wie bei der geringsten Aspergillinase-Konzentration. Nach 75 min war die Volumenverminderung schon ganz erheblich und eindeutig von der höchsten zur niedrigsten Konzentration hin abnehmend (95-70-70-50-25-20 %). Nach vier Stunden war bei allen Konzentrationen eine totale Auflösung der Gerinnsel eingetreten. Die Kontrollansätze zeigten hingegen in dieser Zeit keine meßbare Lyse.

Bei den 48 und 72 Stunden alten Koagula bekamen wir wiederholt die gleichen Lyseergebnisse in gleicher Zeit. Es spielte also keine Rolle, ob die Gerinnsel 48 oder 72 Stunden alt waren.

d) Streptokinase und Aspergillinase zusammen auf Gerinnsel einwirkend

In einigen Versuchsansätzen gaben wir 24 Stunden alte Nativblutgerinnsel in Lösungen, die sowohl aus Streptokinase als auch aus Aspergillinase bestanden. Vergleichend dazu setzten wir in zwei anderen Reihen Lösungen mit reiner Streptase und Aspergillinase an. Die einzelnen Versuchsreihen waren folgendermaßen zusammengesetzt:

Reihe I SK : AG = 1 : 1

Reihe II SK : AG = 7 : 1

Reihe III SK : AG = 1 : 7

Reihe IV SK

Reihe V AG

Die Streptokinase-Konzentrationen waren in allen Reihen 150 ChE/ml, die Aspergillinase-Konzentrationen lagen bei 1,5 mg/ml.

Die Gerinnsel in Reihe I und III lösten sich annähernd gleich schnell wie in Reihe V. In Reihe II kam es zwar auch zu einer totalen Auflösung, aber erst nach 15 Stunden im Gegensatz zu 4 Stunden bei den Reihen I, III und V. Bei dem dazu vergleichenden Ansatz in Reihe IV (nur SK-Lösung) war die Lyse nach 18 Stunden 30 % und nach 32 Stunden trat der Lysestillstand bei einer Auflösung von 60 % ein.

2. OPERATIV GEWONNENES THROMBOTISCHES MATERIAL VERSCHIEDENEN ALTERS

Unsere Experimente mit operativ gewonnenem Material aus thrombosierten Gefäßen lassen sich in 4 Gruppen zusammenfassen.

1. Thrombotisches Material mit SK-Lösung behandelt.
2. Thrombotisches Material mit AG-Lösung behandelt.
3. Thrombotisches Material im Gefäßschlauch mit Streptokinase behandelt.
4. Thrombotisches Material im Gefäßschlauch mit Aspergillinase behandelt.

ad 1. Thrombotisches Material aus verschiedenen Gefäßabschnitten wurde in der angegebenen Weise unterschiedlich konzentrierten Streptokinase-Lösungen ausgesetzt. Die Thromben wurden so verarbeitet, wie sie anfielen und auch bei den Patienten wurde in keinem Fall eine vorherige Auswahl getroffen. Die einzelnen Daten über das Material und über die Versuchsdauer und -durchführung sind in den folgenden vier Tabellen für die 1. Gruppe aufgeführt.

TABELLE 1

Patient	Material Nr.	Anamnese	Streptase- Konzentration [ChE/ml]	Einwirkungs- dauer [h]	Spontanlyse der Kontrolle [%]	Lyse als Volumenänderung [%]	durchschnittliche Lyse [%]	Histologie
8	T ₉₁	10 Jahre	150	24	Ø	-100	100	Thrombembolisches Material, stellenweise Organisation
	T ₉₂	"	100	24	Ø	-100		
	T ₉₃	"	50	24	Ø	-100		
8	T ₉₆	10 Jahre	150	42	Ø	-60	60	Thrombembolisches Material mit minimaler Organisation
	T ₉₇	"	100	42	Ø	-70		
	T ₉₈	"	50	42	Ø	-60		
	T ₉₉	"	50	42	Ø	-50		
17	T ₁₄₃	4 Jahre	50	20	Ø	-70	80	—
	T ₁₄₄	"	50	20	Ø	-100		
	T ₁₄₅	"	50	20	Ø	-60		
32	T ₁₉₁	5 Wochen	50	24	Ø	-100	100	Thrombembolisches Material mit geringer Organisation
	T ₁₉₂	"	150	24	Ø	-90		
	T ₁₉₃	"	300	24	Ø	-100		

THROMBEMBOLISCHES MATERIAL AUS DER AORTA ABDOMINALIS

TABELLE 2

Patient	Material Nr.	Anamnese	Streptase- Konzentration [ChE/mL]	Gesamtmenge Streptase [ChE]	Spontanlyse der Kontrolle [%]	Einwirkungs- dauer [h]	Lyse als Volumenverlust [%]	durchschnittl. Histologie Lyse [%]
16	T131a	3 Wochen	50	800	50	47	80	keine Organisation
	T132b		100	800		24	100	
	T132a		150	1200		24	100	
25	T161	2½ Monate	50	800	Ø	45	65	randständige Organisation
	T162		300	2400		18	100	
	T163		50	800		45	60	
13	T121	¾ Jahr	50	800	30	45	65	keine wesentliche Organisation
	T122		100	1600			100	
	T123		250	4000			100	
27	T175	1 Jahr	25	200	Ø	23	100	randständig minimale Organisation
	T176		50	400			100	
	T177		150	1200			100	
41	T229	1½ Jahre	100	1600	Ø	42	100	95
12	T118	1½ Jahre	100	1600	15	45	20	randständige Organisation
	T119		50	800			50	
15	T128	2 Jahre	50	400	10	22	100	randständige Organisation
	T129		100	800			100	
50	T288	2 Jahre	150	1200	Ø	19	100	100
45	T261	3 Jahre	150	1200	5	20	100	keine Organisation Fibrin-Haschenwerk
11	T115	3-4 Jahre	50	400	Ø	24	80	70

TABELLE 3

Patient	Material Nr.	Anamnese	Streptase- Konzentration [ChE/mL]	Einwirkungs- dauer [h]	Gesamtmenge Streptase [ChE]	Spontan- Lyse [%]	Lyse als Volumenverlust [%]	durchschnittl. Lyse [%]	Histologie
9	T ₁₀₈	4½ Tage	50	17	400	3	95	95	beginnende Organisation
37	T ₂₁₄	9 Tage	150	16	1200	Ø	100	100	—
42	T ₂₄₂	3 Monate	50	24½	400	Ø	30	30	—
44	T ₂₅₇	6 Monate	150	16	1200	Ø	100	100	keine Organisation, Fibrinmaschenwerk
46	T ₂₆₅	3 Jahre	150	24	1200	Ø	55	55	teilweise Organisation
18	T _{142b}	4 Jahre	50	16	400	Ø	0	0	durchorganisiertes Material

THROMBOTISCHES MATERIAL AUS DER ARTERIA JULIACA EXTERNA

TABELLE 4

Patient	Material Nr.	Anamnese	Streptase- Konzentration [ChE/mL]	Einwirkungs- dauer [h]	Gesamtmenge Streptase [ChE]	Spontanlyse der Kontrolle [%]	Volumenänderung [%]	Histologie
23	T ₁₅₂	2 Jahre	50	70	1200		—	ausgedehnte Organisation (A.femoralis superficialis)
	T ₁₅₃		100		2400	Ø	-10	
	T ₁₅₄		150		3600		—	
34	T ₂₂₆	2-3 Jahre	100	42	1600	Ø	+15	ausgedehnte Organisat.
49	T ₂₇₉	2-3 Jahre	150	24	1200	Ø	+70	Organisation
29	T ₁₇₉	5 Monate	150	45	2400	Ø	+60	ausgedehnte Organisation (A.poplitea)
	T ₁₈₁		150		2400			

THROMBEMBOLISCHES MATERIAL AUS DER ARTERIA
FEMORALIS SUPERFICIALIS UND POPLITEA

In diesen vier Tabellen wurden die Ergebnisse des Materials, das von Patienten mit einer arteriellen Embolie stammte, bei denen wir dann die Appositionsthromben in Streptokinase-Lösungen ansetzten, nicht berücksichtigt. Von zwei Patienten mit einer 15 Stunden bestehenden Embolie löste sich bei keinem Ansatz etwas auf, auch nach 47 stündiger Versuchsdauer mit einmal ausgewechselter Lösung nicht. Das Untersuchungsmaterial wurde nur im Verlauf der Untersuchung schleimiger. Bei einem Patienten, bei dem 25 Stunden seit dem akuten Ereignis bis zur Embolektomie aus der linken Arteria brachialis verstrichen waren, kam es zu einer Auflösung bis zu 35 %.

Die histologischen Untersuchungen ergaben in den ersten beiden Versuchen dicht mit Erythrocyten gepackte Gerinnsel, die kein sichtbares Fibrin enthielten. Von dem dritten Patienten war das Präparat teils von geschichtetem, teils von koralenstockähnlichem Aufbau von Plättchenaggregaten und durchsetzt von zahlreichen segmentierten Leukocyten am Rande der Thrombocytenbälkchen.

In der Tabelle 5 sind die Ergebnisse für thrombotisches Material, das mit verschiedenen Konzentrationen Aspergillinase angesetzt wurde, zusammengefaßt. Dabei kam es, wie auch in der Gruppe, die mit Streptokinase behandelt wurde, zu keiner Lyse bei dem durchorganisierten Material aus der Arteria femoralis superficialis. Mit unserer Meßmethode konnten wir auch in dieser Gruppe bei den organisierten Thromben eine Volumenzunahme feststellen, was wohl durch eine Flüssigkeitsaufnahme erklärt werden kann. Wir sahen diese Quellung wiederholt auch bei den Kontrollansätzen, die nur physiologischer Natriumchlorid-Lösung ausgesetzt waren. Wir nehmen an, daß es sich bei diesem Phänomen nicht um eine Auflockerung des organisierten Materials durch die thrombolytisch wirkenden Substanzen handelt, sondern nur um einen passiven Diffusionsvorgang. Histologisch war an diesen Präparaten die Quellung des Gewebes nicht nachzuweisen.

Wir können für diese Gruppe, die Aspergillinase-Lösungen ausgesetzt worden war, sagen, daß eine weitgehende Lyse des thrombotischen Materials zu erwarten ist, wenn die Thromben die Voraussetzungen für eine Auflösung in ihrem Aufbau bie-

ten. Zu einem Versagen der Lyse kam es in dieser Gruppe nicht, wenn das Operationsmaterial noch nicht organisiert war. Einen Angriff der Aspergillinase auf bindegewebig umgebautes thrombotisches Material konnten wir mit unseren histologischen Untersuchungen in keinem Fall nachweisen.

TAEELLE 5

Gefäß- Lokalisation	Material Nr.	Anamnese	Aspergillinase [mg/ml]	Einwirkungs- dauer [h]	Spontanylse [%]	Volumenänderung [%]	durchschnittl. Lyse [%]	Histologie
Arteria iliaca communis	T ₂₆₂	3 Jahre	1,0	19	3	-100	100	sklerisiertes Fasergewebe mit Fibrinmaschenwerk, beginnende Organisation
Arteria iliaca communis	T ₂₃₀ T ₂₃₁	1 Jahr	0,5 1,0	23 23	Ø	-100 -100	100	kernloses in Lamellen ange- ordnetes Material, keine Organisation
Arteria iliaca externa	T ₂₄₃ T ₂₄₄ T ₂₄₅	3 Monate	1,0 0,5 0,2	48 19 19	Ø	-50 -95 -95	80	kernloses, sklerisiertes Fasergewebe
Arteria femorialis superficial.	T ₂₂₇	2-3 Jahre	1,0	42	Ø	+ 40	0	zellarmes, sklerisiertes Gewebe, a.T. vaskularisiert und stellenweise zellreiches Bindegewebe

Vergleichende Untersuchungen zwischen thrombotischem Material, das Streptokinase-Lösung und Aspergillinase-Lösung ausgesetzt wurde (Gruppe 1 und 2)

Wir haben thrombotisches Material von einigen Patienten sowohl mit Streptokinase-Lösung, als auch parallel dazu mit Aspergillinase-Lösung behandelt, um die Wirkung dieser beiden Thrombolytica auch an menschlichem Material zu vergleichen. Dabei ergab sich, daß die Aspergillinase gleiches thrombotisches Material in sehr viel kürzerer Zeit aufzulösen vermag als die Streptokinase, wie wir es auch bei unseren Untersuchungen mit in vitro entstandenen Nativblutgerinnseln sahen. Es kam zu einer totalen Auflösung der Thromben durch die Aspergillinase, wenn im materiellen Aufbau die Voraussetzungen für eine Lyse bestanden (keine bindegewebige Umstrukturierung).

Bei den Streptokinase-Versuchen in dieser vergleichenden Versuchsreihe kam es in einigen Fällen zu einem Lysestillstand, obwohl das im Thrombus enthaltene Fibrin noch nicht ganz aufgelöst war, was wir histologisch mit der Fibrinfärbung nachweisen konnten. Auch mehrmals erneuerte Streptokinase-Lösungen konnten in solchen Fällen die Lyse dann nicht weiterführen. Diese "teilysierten" Thromben ließen sich dann mit Aspergillinase in Minuten total auflösen. Dieser Vorgang spricht dafür, daß es bei diesen in vitro Versuchen mit Streptokinase zu einer Erschöpfung des Plasminogens im Thrombus selbst gekommen sein kann.

3. Gruppe: thrombotisches Material im Intimaschlauch mit Streptokinase behandelt

Um ein möglichst physiologisches Modell zu haben, setzten wir in dieser Versuchsreihe thrombotisches Material, das durch die Stripping-Methode gewonnen wurde und mit der Intima umgeben war, Streptokinase-Lösung aus. Dabei konnten wir aber mit unserer Meßmethode (Volumenverdrängung) keine eindeutigen Ergebnisse erhalten, einmal weil der Intimaschlauch nicht lysierbar ist und zum anderen in den aufgelösten Abschnitten sich die Lösung befinden kann und so falsch negative Ergebnisse entstehen würden. Ein grobes Maß für eine Lyse in

dieser Versuchsanordnung lieferte uns die Menge des Bodensatzes in der Spitze des Reagenzglases und die Histologie. Wir sahen in dieser Gruppe nur eine Lyse an den Enden der Intimaschläuche bei allen Konzentrationen der STREPTASE^R.

Bei dieser Versuchsreihe spielte auch die Herkunft des Gefäßabschnittes nicht so eine eindeutige Rolle für die Lyseergebnisse, wie in der Gruppe, in der das thrombotische Material ohne Intima unmittelbar der STREPTASE^R ausgesetzt worden war. Vielleicht muß man dieses Ergebnis aber auch mit der zu groben Beurteilung der Lyse erklären.

Wurde die Streptokinase-Lösung durch die Intima direkt in das thrombotische Material mit einer Kanüle injiziert, dann waren die Ergebnisse in dieser Gruppe nicht besser, was auch histologisch nachgewiesen werden konnte. Es konnte dabei immer nur eine sehr kleine Menge Lösung auf einmal injiziert werden. Um die Gesamtmenge der Lösung in einer vergleichbaren Dosis zu haben, injizierten wir bei dieser Anordnung dann jeweils 8 ml Lösung in ca. acht einzelnen Mengen im Verlauf von 24 Stunden (Abb. 1).

4. Gruppe: thrombotisches Material im Intimaschlauch mit ASPERGILLINASE behandelt

In dieser Gruppe wurde die gleiche Versuchsanordnung wie in der 3. Gruppe angewendet. Auch stammte das Material jeweils von den gleichen Patienten und aus dem gleichen Operationspräparat, so daß möglichst annähernd gleiche Voraussetzungen, wie in der 3. Gruppe bestanden und die Ergebnisse verglichen werden konnten. Die Konzentrationen der Aspergillinase lagen zwischen 1,0 mg/ml und 0,2 mg/ml. Wir sahen in den Fällen, in denen das thrombotische Material nicht organisiert war, was histologisch nachgewiesen wurde, eine totale Rekanalisation des Intimaschlauches. Diese Lyse dauerte annähernd 24 Stunden. In einem Parallelversuch dazu, in dem das thrombotische Material von der Intima befreit war und so frei in der Aspergillinase-Lösung hing, kam ein vergleichbar großes

Stück in 6 Stunden zu einer totalen Auflösung.

Eine ähnliche Versuchsanordnung wie die in der 3. Gruppe (Thrombus mit Intima umgeben) verwendeten wir in einer parallel zu den Versuchen der 3. und 4. Gruppe laufenden Reihe. Hier war das thrombotische Material nur nicht in dem natürlichen Intimaschlauch, sondern in einem dem Durchmesser des Thrombus angepaßten PVC-Schlauch eingebracht worden. Dieses "künstliche Gefäß" hängten wir entweder in die Streptokinase-Lösung hinein oder die STREPTASE-Lösung wurde direkt durch den PVC-Schlauch hindurch injiziert. Die Lyseergebnisse entsprachen denen in der 3. Gruppe, wenn die Schläuche so gewählt waren, daß sie die Thromben gut umschlossen, sie aber nicht zusammenpreßten. Waren die Durchmesser der PVC-Schläuche zu klein, so daß es zu einer Zusammenpressung des Thrombus kam, dann war die Lyse praktisch nie nachweisbar. Hingegen entsprachen die Ergebnisse etwa denen der 1. Gruppe (thrombotisches Material mit SK behandelt, frei in der Lösung hängend), wenn das thrombotische Material leicht in dem Schlauch hin und her bewegt werden konnte. In einem Fall kam es zu einer totalen Lyse eines 7 mm langen Thrombus, der 9 Tage alt war und einer SK-Lösung von 150 ChE/ml im PVC-Schlauch ausgesetzt worden war. Dieser Thrombus war nicht beschädigt worden bei der Thrombektomie und er wurde auch nicht zerteilt, weshalb keine Kontrolluntersuchung mit 0,9 %-iger NaCl-Lösung in diesem Versuch mitlaufen konnte.

Die gleichen Versuche führten wir auch mit Aspergillinase durch. In dieser Reihe sahen wir, wie in der 4. Gruppe ebenfalls eine totale Auflösung des thrombotischen Materials, wenn die Voraussetzungen für eine Fibrinolyse bestanden. Die Dauer bis zu einer totalen Auflösung war in dieser Reihe bei OP-Material vom gleichen Patienten annähernd so wie in der Gruppe 4, also ebenfalls erheblich länger als in der 2. Gruppe, in der der Thrombus von allen Seiten gespült werden konnte.

VII. DISKUSSION

Es konnte nachgewiesen werden, daß präformierte und retrahierte Nativblutgerinnsel mit Streptokinase teilweise und mit Aspergillinase völlig auflösen sind. Dabei konnten wir eine Abhängigkeit der Lyse mit Streptokinase vom Alter der Gerinnsel feststellen. In-vitro-Gerinnsel, die älter als 24 Stunden sind, lassen sich besser lysieren mit Streptokinase als nur 11/2 oder 24 Stunden alte Koagel. GOTTLÖB konnte eine Abnahme des Wassergehaltes der Gerinnsel von 10 % durch die Retraktion feststellen. In der Folgezeit, vor allem aber nach dem 2. Tag seit der Gerinnung, wird dieser Wasserverlust wieder ausgeglichen (35).

Dieses Phänomen soll neben der Abnahme des Plasmininhibitorgehaltes unter anderem die bessere Lysierbarkeit erklären.

Wir erhielten bei den Experimenten mit STREPTASE^R die besten Ergebnisse mit Konzentrationen, die etwa denen der therapeutisch induzierten Lyse entsprechen, sowohl bei den in-vitro entstandenen Gerinnseln, als auch bei menschlichen Thromben. ROSSOLECK (20) fand in einer ähnlichen Versuchsanordnung ebenfalls bei höheren Konzentrationen, als die, welche den therapeutischen Dosen entsprechen, eine Hemmung der Fibrinolyse und auch eine verlängerte Zeit bis zum Lysestillstand. Eine genaue Bestimmung einer optimalen SK-Konzentration ist aus unseren Experimenten aber nicht möglich, da wir die Lysezeiten nicht differenziert genug gemessen haben, weil wir die mechanischen Einflüsse, die bei unserer Meßmethode unvermeidlich sind, so gering wie möglich halten wollten und darum die Lyse in den meisten Versuchen nur alle 24 Stunden ablasen. Auch FISCHBACHER (21) fand in einer anderen Versuchsanordnung eine Lysehemmung durch Überdosierung. Diese Feststellung ist vielleicht eine Unterstützung der Theorie von HEIMBURGER (15). Dabei soll eine maximale Aktivator-Aktivität bei einem Molverhältnis von PP : SK wie 1 : 1 bestehen und bei den darüber und darunter liegenden Konzentrationen sind Plasmin und Aktivator nebeneinander existent. WINCKELMANN (22) sah bei einer halbstündigen Erneuerung der Strepto-

kinase-Lösung eine totale Auflösung der Gerinnsel innerhalb von 1 bis 2 Stunden. Bei unseren Untersuchungen kam es bei einer halbstündlichen Auswechselung der SK-Lösung zum gleichen Lyseergebnis wie bei einer nur 24-stündigen Erneuerung, nur trat bei einer häufigen Erneuerung der SK-Lösung der Lysestillstand erheblich eher ein. Zu einer totalen Auflösung kam es unter diesen Bedingungen aber nicht.

Bei den in-vitro Untersuchungen kommt es zu einer Thrombolyse durch Kontakt der zugeführten Streptokinase mit dem gerinnseigenen Plasminogen (Endothrombolyse). Ein Lysestillstand bei ausreichendem Aktivator im geschlossenen System, wie es bei uns vorlag, kann mit einer Erschöpfung des zu aktivierenden Plasminogens oder mit einem Nichterreichen des Proferments durch zu dicht gepackte Erythrocyten erklärt werden (24). Eine weitere Möglichkeit für eine Erklärung wäre noch ein hoher Inhibitorgehalt (24) oder überhaupt ein Mangel an lysierbarer Substanz.

Unsere mikroskopischen Präparate haben gezeigt, daß es zu einer Abschmelzung des Gerinnsels von der Randzone aus kommt und wir sahen niemals bei den in-vitro entstandenen Koagula eine Lyse oder auch nur eine Auflockerung im Inneren. Dabei kommt es zu einer Entleerung des mit korpuskulären Elementen angefüllten Maschenwerkes. Diese entleerte Randzone, die wir bei den in-vitro gebildeten und auch bei den operativ gewonnenen Gerinnseln sahen, konnten wir histologisch darstellen. Bei den Nativblutgerinnseln war dieses Netz in der noch nicht entleerten Zone aber nicht darstellbar, wohl weil die zelligen Elemente, im wesentlichen Erythrocyten, das sich makroskopisch blaßgelblich von der roten Farbe des frischen Gerinnsels (Erythrocyten) abhebt, färbt sich in den histologischen Präparaten mit der LADEWIG-Färbung niemals in der typischen kardinalroten Farbe des Fibrins, sondern es nahm nur eine blasse hellblaue Farbe an. Die gleiche Farbe hatte auch das von Erythrocyten und anderen Zellen befreite und makroskopisch ebenfalls blaß gelbliche, schleierartige zurückgebliebene Gerüst der in vivo gebildeten Thromben, die sich bis dahin gut mit SK lysieren ließen, dann durch weitere SK nicht mehr angreifbar waren, aber von Aspergillinase in wenigen Minuten aufgelöst werden konnten. Dieses schleierartige Gebil-

de war sehr empfindlich gegen mechanische Einwirkungen und es brach oft schon beim vorsichtigsten Manipulieren zu Detritus auseinander (totale Lyse).

Die darstellbare Lyse an der Oberfläche der Gerinnsel findet dadurch statt, daß in den Randgebieten die Streptokinase wahrscheinlich aus physikalischen Gründen angereichert ist und es dort daher am ehesten zu einer Plasminogenaktivierung kommt (23).

JÜRGENS (24) erklärt die dichtgepackten Erythrocyten als ein Hindernis für die Streptokinase und deutet so teilweise die Unlöslichkeit oder Partiallyse der in vitro entstandenen Gerinnsel. In der gleichen Arbeit fordert er für den Begriff der "Endothrombolyse" den "Aufbruch" eines Gerinnsels von innen her. Die Aktivierung von thrombuseigenem Plasminogen, wie in den in vitro Untersuchungen, rechtfertigt diesen Begriff, auch wenn kein Aufbruch eines Gerinnsels dabei von innen her erfolgt wie LUDWIG es beschreibt und in mikroskopischen Bildern auch dokumentiert (27).

Wir sahen bei keinem unserer histologischen Präparate einen solchen Aufbruch von innen her. Allerdings konnten wir aber in einigen Präparaten ein Eindringen der Streptokinase wie auf Straßen annehmen, da hier das Fibrin an diesen Zügen im Thrombus angedaut oder teilweise ganz aufgelöst war. Dabei war das durchschnittliche Lyseergebnis mit unserer Meßmethode aber nicht besser, als wenn ein Eindringen der Streptokinase auf diesen "Straßen" nicht nachzuweisen war.

Wenn ein Thrombus von einem natürlichen Gewebe (Intima) oder auch in einem künstlichen "Gefäß", wie beispielsweise ein PVC-Schlauch enthalten ist und so nicht von allen Seiten mit der thrombolytisch wirkenden Substanz gespült werden kann, sondern nur von den offenen Seiten des umschließenden Mantels, dann löst sich das Gerinnsel nur von der Seite des Kontaktes mit dem Thrombolyticum.

Diese frontale Lyse findet sowohl mit Streptokinase, als auch mit Aspergillinase statt, nur mit letzterer sehr viel schneller und vollständiger. Das fibrinolytische

Agens dringt also von der Seite des Kontaktes an den Thrombus heran und führt so zu einer Abschmelzung von der Kontaktfläche her. Eine Diffusion in den Thrombus existiert nur in sehr geringem Maße, also nur oberflächlich (21, 24).

FISCHBACHER führt als weiteren Beweis der Nebensächlichkeit der Diffusion in den Thrombus und als das Wesentliche die frontale Lyse folgendes an: Bei einem von der Wand abgerissenen Thrombus im TEG genügt eine gleiche SK-Dosis, um eine viel stärkere Lyse hervorzurufen, als wenn der Abriß nicht erfolgt ist: mit Abriß muß die Lyse nur 1 mm Dicke des Thrombus überwinden, ohne hingegen 10 mm der Thrombushöhe (21).

Auch die Erfahrungen von HIEMEYER und RASCHE (23), sowie von GROSS (33) mit J^{131} -markierter SK, die in Thromben induziert wurde und von denen dann Autoradiogramme von den histologischen Schnitten angefertigt wurden, geben einen Hinweis für eine Anreicherung der Streptokinase in den Randpartien. Ein Eindringen der Streptokinase durch den natürlichen Intimaschlauch konnten wir in unseren Untersuchungen histologisch nicht nachweisen. Die vergleichenden Versuche mit den absolut undurchlässigen PVC-Schläuchen sprechen aber eher gegen als für ein Eindringen von diesen umschlossenen Seiten her bei in vitro Untersuchungen.

Nach den Arbeiten von BACK, AMBRUS u. a. (27) hat man sich allgemein auf den Standpunkt gestellt, daß eine erfolgreiche Fibrinolyse eines Arterienverschlusses mit Streptokinase nach dem 3. bis maximal 5. Tage nach dem akuten Ereignis nicht mehr zu erwarten sei, weil der Thrombus schon nach wenigen Tagen mit Endothel überzogen und so dann unangreifbar für fibrinolytisch wirkende Substanzen wird. Diese Feststellungen beziehen sich aber wahrscheinlich nur auf künstlich entstandene Thromben unveränderten Gefäßen (29).

Unsere histologischen Untersuchungen zeigten, daß thrombotisches Material von Patienten, die eine Anamnese von mehreren Wochen bis zu einigen Jahren hatten, nicht organisiert sein muß und daher auch einer Thrombolyse in vitro mit

gutem Erfolg unterliegen kann.

Diese pathologisch-anatomischen Befunde, daß arterielle Gerinnsel auch nach längerer Zeit unorganisiert bleiben können, stimmen mit den Ergebnissen anderer Untersucher überein (30, 31, 32). Ein wesentlicher Punkt bei der Organisation von thrombotischem Material in einer Arterie scheint nicht das Alter allein zu sein, sondern auch die Lokalisation (je zentraler das Gefäß, desto verzögerter ist die Organisation). Ob der Zustand des Gefäßes (Sklerosierung) eine Rolle dabei spielt, haben wir selbst nicht nachgewiesen. Es ist aber möglich. Es konnte auch nicht entschieden werden, ob die Größe des Gefäßlumens oder ob die Art des Gefäßes (elastischer Typ - muskulärer Typ) entscheidend für die Organisation ist. Wahrscheinlich hat aber beides einen Einfluß auf die Organisation. In den histologischen Präparaten von den Gefäßwänden sahen wir besonders bei den großlumigen Arterien eine starke Durchsetzung mit elastischen Fasern. Teilweise ist die Intima durch die Inkorporation von alten organisierten Thromben enorm verdickt und zum Lumen hin mit einer dünnen Fibrinschicht, die stellenweise eine beginnende Organisation zeigt, ausgekleidet. Diese Fibrinschicht ließ sich mit Streptokinase total auflösen.

Bei den histologischen Untersuchungen der Präparate von Material aus der Aorta abdominalis, Arteria iliaca communis und externa sah man in der Mehrzahl der Präparate in den Randgebieten einsprießendes Granulationsgewebe. Eine vollständige Organisation fanden wir bei Thromben aus der Aorta und aus der Iliaca communis in keinem Fall, hingegen bei Verschlüssen der Arteria femoralis und poplitea, die einen muskulären Wandaufbau haben, in einigen untersuchten Thromben. Die Femoralisverschlüsse waren dann nicht vollständig organisiert, wenn eine starke Intimasklerose vorlag.

Da das Material aus der Aorta und aus der Iliaca schon relativ alt zu sein schien, laut Anamnese mehrere Wochen bis Jahre, kann man annehmen, daß der Organisationsprozeß sehr verzögert und aus einer Organisation in den Randgebieten nicht grundsätzlich eine vollständige Organisation folgen muß oder sie nur sehr lang-

sam fortschreitet. Diese beginnende Organisation sahen wir aber nicht regelmäßig bei Thromben aus diesen Gefäßabschnitten, sondern zum Teil fehlten alle Zeichen eines Granulationsgewebes, auch bei den älteren Verschlüssen. Diese Präparate konnten dann in einigen Fällen vollständig aufgelöst werden.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß ältere menschliche Thromben in vitro mit Streptokinase und mit Aspergillinase dann noch lysierbar oder teillysierbar sind, wenn sie noch nicht vollständig organisiert sind und lysierbare Substanzen enthalten. Diese Ergebnisse stimmen mit denen von anderen Autoren überein (20, 30, 35). Ältere Femoralis- und Popliteaverschlüsse konnten auch von KAINDL und Mitarbeitern (36), sowie von SCHOOP (37) und EHRINGER und FISCHER (39) nur ausnahmsweise teillysiert werden.

Proteolytische Vorgänge direkt am Granulationsgewebe konnten wir weder durch Streptokinase noch durch Aspergillinase nachweisen. Wir schließen sie bei Aspergillinase aber nicht aus. Das Granulationsgewebe in den Randpartien bekam nur eine sehr lose Struktur, weil die noch lysierbaren Thrombusanteile herausgelöst worden waren und dadurch praktisch die Gerüstsubstanz fehlte.

Bei allen unseren in-vitro-Untersuchungen muß offen bleiben, ob in diesen Versuchsdurchführungen mit überwiegend aufgeteiltem und so oberflächenbeschädigtem Material und nur ganz vereinzelt makroskopisch nicht verletztem intravasal entstandenen Thromben (Versuch Nr. 37) dem Eindringungsvermögen der thrombolytisch wirkenden Substanz Vorschub geleistet worden ist.

VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Orientierende Vorversuche mit im Reagenzglas entstandenen Nativblutgerinnseln wurden STREPTOKINASE- und ASPERGILLINASE-Lösungen verschiedener Konzentrationen in vitro ausgesetzt. Die besten Ergebnisse mit STREPTOKINASE erzielten wir mit Konzentrationen zwischen 50 und 150 ChE/ml. Diese Konzentrationen entsprechen denen, die in der therapeutischen Lyse verwandt werden. Für ASPERGILLINASE ergab sich die optimalste Lyse in diesen Versuchsansätzen bei einer Konzentration von 1,5 mg/ml, der von uns am höchsten angewendeten Konzentration.

Intravasal entstandene und operativ gewonnene menschliche Thromben wurden ebenfalls den beiden thrombolytisch wirkenden Substanzen ausgesetzt und bis zu 70 Stunden bei 37°C beobachtet.

Die Lyse wurde in verschiedenen Zeitabständen durch Volumenverdrängung gemessen bzw. photographisch registriert. Das thrombotische Material wurde in den verschiedenen Stadien der Lyse histologisch untersucht. Es konnte nachgewiesen werden, daß Thromben, die älter als fünf Tage waren, sowohl mit Streptokinase als auch mit Aspergillinase in vitro lysierbar oder teillysierbar sind, wenn es noch zu keiner vollständigen Organisation gekommen ist.

Bei der Organisation spielt nicht nur das Alter der Thromben eine Rolle, sondern auch die Lokalisation (je zentraler das Gefäß ist, desto verzögerter ist die Organisation).

Es wurde thrombotisches Material von 40 Patienten aus verschiedenen Gefäßabschnitten untersucht. Dabei erzielten wir mit STREPTOKINASE eine durchschnittliche Lyse der Thromben aus der Aorta abdominalis von 85 % (100 %, 60 %, 80 %, 100 %), mit Thromben aus der Arteria iliaca communis ebenfalls von 85 % (95 %, 75 %, 85 %, 100 %, 95 %, 35 %, 100 %) aus der Arteria iliaca externa von 65 %

(95 %, 100 %, 100 %, 30 %, 55 %, 0 %).

Bei den Thromben aus der Arteria femoralis kam es nur in einem Fall zu einer Auflösung von 10 %; in den übrigen Fällen war eine Lyse nicht mehr möglich, weil das Material schon bindegewebig durchorganisiert war.

Mit Aspergillinase konnten wir eine Auflösung von 100 % für Thromben aus der Arteria iliaca communis und von 80 % für Material aus der Arteria iliaca externa messen.

Bei diesen Ergebnissen ist das Alter der Thromben nicht berücksichtigt worden. Das wahrscheinliche Alter des thrombotischen Materials dieser Patienten lag zwischen 20 Stunden und 10 Jahren.

Vergleichende Untersuchungen mit STREPTOKINASE und ASPERGILLINASE bei gleichem thrombotischem Material zeigten, daß die ASPERGILLINASE das gleiche Substrat in sehr viel kürzerer Zeit als STREPTOKINASE aufzulösen vermag. Thromben, die mit STREPTOKINASE nur teillysiert werden konnten, weil bei den in vitro Versuchen wahrscheinlich eine Plasminogenverarmung eingetreten war, wurden mit ASPERGILLINASE dann noch weiter aufgelöst, wenn keine Organisation des Materials vorlag und so die Voraussetzungen für eine weitere Lyse gegeben waren.

IX. LITERATURVERZEICHNIS

1. Tillet, W. S. und R. L. Garner: J. exper. Med. 58, 485, (1933)
2. Christensen, L. R.: J. gen. Physiol. 28, 363, (1945)
3. Boyles, P. W.: Antithrombotic Therapie, Verlag Grune und Stratton, New York and London (1959)
4. Fletcher, A. P.: Proc. Soc. exper. Biol. (N.Y.) 94, 233, (1957)
5. Grassmann, W.: Ergeb. d. Enzymforsch. 1, 149, (1932)
6. Stefanini, M. und H. Martin: Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 99, 504, (1958)
7. Bergvist, R.: Acta chemica Scand. 17, 2247, (1963)
8. Müllertz, S.: Proc. soc. exper. Biol. (N.Y.) 82, 291, (1953)
9. Astrup, T. und J. Sterndorff: J. Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 81, 675 (1952)
10. Lewis, J. H. und J. H. Ferguson: J. clin. Invest. 29, 1052 (1950)
11. Astrup, T. und J. Sterndorff: Natur 170, 981 (1952)
12. Frost, H. und H. Hess: Klin. Wschr. 46, 20, 1099 (1968)
13. Jacobson, K.: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 5, 97 (1953)
14. Schmutzler, R. und F. Koller: Ergeb. d. inneren Med. und Kinderheilkunde 22, 1976, (1965)
15. Heimbürger, N.: Thrombolytische Therapie, H. Hess, F. K. Schattauer-Verlag, Stuttgart, 7, (1967)
16. Painter, R. H.: Antikoagulants and Fibrinolysins, Lea and Febiger, Philadelphia p. 351 (1961)
17. Christensen, L. R. und M. MacCarty: The Streptokinase-Plasminogen-System, Streptococcal infection, Columbia Univ. Press, New York 1954, 39
18. Bergvist, R.: Acta chemica Scand. 17 (1963), 2238
19. Ladewig: Mikroskopische Technik 55 (1938) 215
20. Rossoleck, H.: Klin. Wschr. 39, 8, (1961) 440-441
21. Fischbacher, W.: Klin. Wschr. 46, 18 (1968) 1000-1003
22. Winkelmann: Behring-Mitteilung 44, 68
23. Hiemeyer, V. und H. Rasche: Klin. Wschr. 44, 10, (1966) 539-544

24. Jürgens, J.: Klin. Wschr. 42, 11 (1964) 534-538
25. Gross, R., W. Hartl, G. Kloss, B. Rahn; Dtsch. med. Wschr. 85 (1960) 2119
26. Marx, R.: Behringwerk-Mitteilung 41 (1962)
27. Ludwig, H.: Dtsch. med. Wschr. 89, 23, (1964) 1105
28. Back, N., C. L. Ambrus, S. Simpson, S. Schulman; J. clin. Invest. 37 (1958) 864
29. siehe 25
30. Rossoleck, H.: Thrombosis et Diath. Haemorrhagica Vol. IX No. 3/4 (1963) 464
31. Jäger, E.: Virchow's Arch. pathol. Anat. 284 (1932) 527
32. Klostermeyer, W.: Langenbecks Arch. klin. Chir. 263 (1950) 545
33. siehe 21
34. Gross, R. Behringwerk-Mitteilung 44 (1964) 1
35. Gottlob, R., G. Blümel, F. Piza, P. Brücke, H. J. Böhmig; Wien. med. Wschr. 118 (1968) 1
36. Kaindl, F., H. W. Pilgersdorfer, P. Weidinger und M. Fischer; Med. Welt 19 N. F. (1968) 1731
37. Schoop, W., M. Martin, E. Zeitler; Dtsch. med. Wschr. 93, 48, (1968) 2321-2324
38. Schmutzler, R.: Therapeutische Fibrinolyse, H. Hess, F. K. Schattauer-Verlag Stuttgart 12 (1967)

Herrn Professor Dr. H. Hess danke
ich für die Überlassung des Themas,
die Arbeitsmöglichkeiten in seinem
Labor sowie für seine freundlichen
und anregenden Ratschläge.

LEBENS LAUF

Am 15. März 1943 wurde ich als drittes Kind des Landwirts Friedrich Wilhelm Wöhler und seiner Ehefrau Margot, geb. Christiansen auf Gut Golste Krs. Uelzen geboren.

Die Grundschule besuchte ich in Natendorf. Ostern 1963 bestand ich am Lessing-gymnasium zu Uelzen die Reifeprüfung.

Ich begann mit dem Studium an der Tiermedizinischen Hochschule in Hannover im Sommersemester 1963. Ein Jahr später wechselte ich nach München über und bestand am 17. Dezember 1969 das medizinische Staatsexamen.

Seit 1969 bin ich mit dem Dipl. Ing. Architekten Klaus Semsroth verheiratet.

